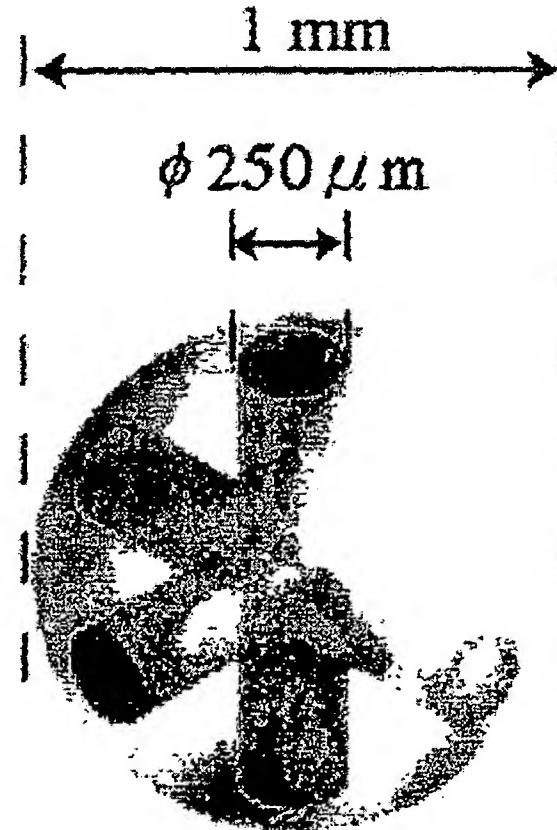


SPHERICAL CALCIUM PHOSPHATE MOLDING AND USE THEREOF**Publication number:** WO03075973**Publication date:** 2003-09-18**Inventor:** TERAOKA KAY (JP)**Applicant:** NAT INST OF ADVANCED IND SCIEN (JP); TERAOKA KAY (JP)**Classification:****- international:** A61L27/12; A61L27/56; C01B25/32; C04B35/447; C04B38/00; A61L27/00; C01B25/00; C04B35/01; C04B38/00; (IPC1-7): A61L27/12; C01B25/32**- european:** A61L27/12; A61L27/56; C01B25/32; C04B35/447; C04B38/00A**Application number:** WO2003JP02922 20030312**Priority number(s):** JP20020066375 20020312; JP20020176600 20020618; JP20020176615 20020618**Also published as:** G B2402128 (A)
 A U2003221357 (A1)**Cited documents:** W O8707495
 J P4047422U
 J P8336584
 US 4960426
 J P3294221**Report a data error here****Abstract of WO03075973**

Calcium phosphate ceramic beads having through-holes, an aggregate of the beads, new usage forms thereof, etc. In particular, calcium phosphate ceramic molding capable of forming a porous body with completely or partially communicating holes when charged in a given space so as to construct an aggregate, especially, calcium phosphate ceramic beads characterized in that (1) the molding has one or more through-holes, (2) the molding is an aggregate or a sintered body, and (3) the molding is in the form of beads. There are provided a productive process thereof, a beads aggregate composed of the above beads as a minimum constituent unit, a beads accumulation wherein beads are accumulated in such a manner that the through-holes thereof are oriented in a given direction, and various carriers utilizing the functions of such a porous body with completely or partially communicating holes.

**BEST AVAILABLE COPY**

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2003年9月18日 (18.09.2003)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 03/075973 A1

(51) 国際特許分類: A61L 27/12, C01B 25/32 行政法人産業技術総合研究所中部センター内 Aichi (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP03/02922 (74) 代理人: 須藤 政彦 (SUDO,Masahiko); 〒103-0022 東京都中央区日本橋室町1丁目6番1号 真洋ビル6階 Tokyo (JP).

(22) 国際出願日: 2003年3月12日 (12.03.2003) (81) 指定国(国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(25) 国際出願の言語: 日本語 (84) 指定国(広域): ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ヨーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ: 特願2002-066375 2002年3月12日 (12.03.2002) JP (71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 独立行政法人産業技術総合研究所 (NATIONAL INSTITUTE OF ADVANCED INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNOLOGY) [JP/JP]; 〒100-8921 東京都千代田区霞が関一丁目3番1号 Tokyo (JP).

特願2002-176600 2002年6月18日 (18.06.2002) JP

特願2002-176615 2002年6月18日 (18.06.2002) JP

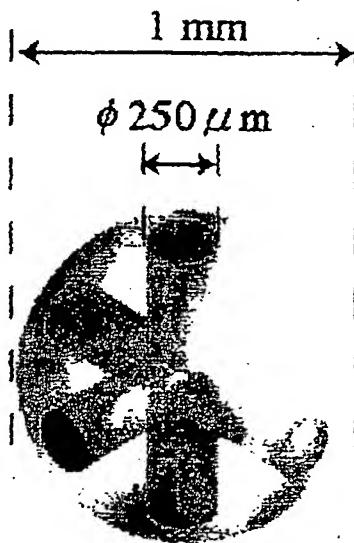
(72) 発明者: および (75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 寺岡 啓 (TERAOKA,Kay) [JP/JP]; 〒463-8560 愛知県名古屋市守山区大字下志段味字穴ヶ洞2266番地の98 独立

添付公開書類:
— 国際調査報告書

[結果有]

(54) Title: SPHERICAL CALCIUM PHOSPHATE MOLDING AND USE THEREOF

(54) 発明の名称: 球状リン酸カルシウム成形体及びその用途



(57) Abstract: Calcium phosphate ceramic beads having through-holes, an aggregate of the beads, new usage forms thereof, etc. In particular, calcium phosphate ceramic molding capable of forming a porous body with completely or partially communicating holes when charged in a given space so as to construct an aggregate, especially, calcium phosphate ceramic beads characterized in that (1) the molding has one or more through-holes, (2) the molding is an aggregate or a sintered body, and (3) the molding is in the form of beads. There are provided a productive process thereof, a beads aggregate composed of the above beads as a minimum constituent unit, a beads accumulation wherein beads are accumulated in such a manner that the through-holes thereof are oriented in a given direction, and various carriers utilizing the functions of such a porous body with completely or partially communicating holes.

(57) 要約: 本発明は、貫通孔を有するリン酸カルシウム系セラミックスピーズ、その集合体、及びその新しい利用形態等を提供するものであり、本発明は、所定の空間に充填して集合体を構築したときに完全又は部分的連通孔多孔体を形成する機能を有するリン酸カルシウム系セラミックス成形体であって、(1) 上記成形体は1つ以上の貫通孔を有する、(2) 上記成形体は凝集体又は焼結体である、(3) 上記成形体の形状はビーズ状である、ことを特徴とするリン酸カルシウム系セラミックスピーズ、その製造方法、上記ビーズを最小構成ユニットとして構築されたビーズ集合体、ビーズの貫通孔を一定方向に配向させて集積したビーズ集積体、及びそれらの完全又は部分的連通孔多孔体としての機能を利用した各種担体、である。

WO 03/075973 A1



2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

明細書

球状リン酸カルシウム成形体及びその用途

5 技術分野

本発明は、特定の方法で調製した特定の形態を有するリン酸カルシウム系生体適合性材料の、硬組織補綴及び再生医療分野における新しい利用形態に関するものである。更に詳しくは、本発明は、集合体もしくは集積体を構築したときに完全又は部分的連通孔多孔体を形成する機能を有するリン酸カルシウムビーズに係るものであり、当該ビーズは、1つ以上の貫通孔を有する場合があり、集合状態において、骨形成を目的とした場合の理想とされる完全又は部分的連通孔多孔体を形成する機能を発揮する。本発明の上記リン酸カルシウムビーズは、骨再生を目的とした骨欠損部・骨折部補修用、骨粗鬆症・骨延長部位に対する注入剤、金属製人工材料と骨母床間の間隙充填用の充填剤、薬剤担体、細胞培養担体等として好適に利用し得るものとして有用である。

背景技術

従来より、水酸アパタイト、 β -TCP等のリン酸カルシウム系材料は、自家骨との生着・置換を期待できる骨代替物として利用されている。それらの利用形態としては、緻密体、多孔体及び自己硬化型ペースト等が知られている。これらの内、上記緻密体は、所望のリン酸カルシウムの圧粉成形体を焼結することによって得られる、孔の無い焼結体である（例えば、[1] K. de Groot, "Ceramics of Calcium Phosphates: Preparation and Properties," in *Bioceramics of Calcium Phosphate*, ed. K. de Groot (CRC Press, Boca Raton, FL, 1983) pp. 100-11

4、[2] H. Denissen, *Dental Root Implants of Apatite Ceramics Experimental Investigations and Clinical Use of Dental Root Implants Made of Apatite Ceramics* (Ph. D. Thesis, Vrije Universiteit te Amsterdam, 1979)、[3] H. Denissen et al., *Hydroxylapatite Implants* (India: Piccin Nuova Libraria, S. P. A., 1985)。

また、上記多孔体は、所望のリン酸カルシウム粉体を、適宜選択したポリマーロストワックス等と混合し、作製した成形体を焼結するか、所望のリン酸カルシウム内にバーリングにより孔を作った成形体を焼結することによって得られる、空隙、細孔を含む焼結体である（例えば、[4] W. Hubbard, *Physiological Calcium Phosphates As Orthopedic Biomaterials*, (Ph. D. Thesis, Marquette University, 1974)、[5] C. Klein et al., "Macroporous Calcium Phosphate Bioceramics in Dog Femora: A Histological Study of Interface and Biodegradation," *Biomaterials* 10 (1989) 59-62）。

更に、上記自己硬化型ペーストは、硬化が期待できる組み合わせの2種類以上のリン酸カルシウム混合物を、適宜選択された練和液と混合し、ペースト状にした物である（例えば、[6] P. D. Costantino et al., "Hydroxyapatite Cement: I. Basic Chemistry and Histologic Properties," *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 117 (1991) 379-384）。

しかしながら、前述の緻密体は、自家骨と置換されることがほとんど期待できない。また、骨代替物は、生涯を通して破損しない機械的特性が要求されるが、上記緻密体は、セラミックスの宿命ともいえる脆性を改善することは困難である。また、自家骨に比べて高強度な緻密体は、周囲の自家骨と機械的に調和せず、しばしば、自家骨の二次的な骨折や骨吸収の原因となる。

近年、早期の自家骨との置換を期待して、リン酸カルシウム多孔体を

骨代替物として用いるケースが増えている。しかし、現行の多孔体は、その孔径が、骨形成に関して適した設計ではなく、また、多くの密閉気孔を含むため、期待通りの骨置換が実現できない。この多孔体を、金属製人工材料と骨母床間の間隙充填剤として用いる場合、多孔体は、不定5 形に碎かれて間隙に充填されるが、この際にできる粉には細胞毒性が懸念される。また、注入療法によって低侵襲に骨欠損を充填する目的で、アパタイトセメント等の利用が検討されている。しかし、これらは、体液・血液存在下では硬化が良好でない。

最近、自家骨との早期置換を期待したリン酸カルシウム系セラミック10 多孔体の使用について、歯科及び整形外科分野で検討が進められている。骨代替物としての多孔体においては、孔径が骨芽細胞のイングロースに適した大きさ（直径 200～600 μm 以上）を持ち、かつ、すべての孔が 1 つのネットワークを作る連通孔であることが望ましい。また、多孔体を金属製人工材料と骨母床間の間隙充填剤として用いる場合、15 細胞毒性の懸念される粒径の粉を出すことなく、創傷に緻密に充填できる形状及びハンドリング特性が望まれている。リン酸カルシウムを用いた注入療法においては、注入剤が創傷内で十分な強度を保つことが期待されている。多孔体を培養担体として用いる場合、所望の細胞が侵入・分化・増殖できる孔径と連通孔構造が必要である。しかし、これらの条件20 を満たす多孔体は未だ開発されておらず、当技術分野においては、上記条件を満たす新しい多孔体材料の開発が強く要請されていた。

発明の開示

このような状況の中で、本発明者は、上記従来技術に鑑みて、上記従25 来技術における諸問題を確実に解消することができる新しいリン酸カルシウム系生体適合性材料とその新しい利用形態、その製品及び投与方法

等を、多角的な視点から検討し、開発することを目標として鋭意研究を積み重ねた結果、1つ以上の貫通孔を有する場合があるリン酸カルシウムビーズ及びその集合体等を利用することにより所期の目的を達成し得ることを見出し、本発明を完成させるに至った。

5 すなわち、本発明は、1つ以上の貫通孔を有する場合があるリン酸カルシウムビーズを提供することを目的とする。

また、本発明は、所定の空間に充填して、もしくは適宜のマトリックスにより連結して、集合体を構築したときに、当該集合体として完全又は部分的連通孔多孔体を形成する機能を発揮するリン酸カルシウムビーズを提供することを目的とする。

10 また、本発明は、上記ビーズを、その貫通孔の一部又は全部を一方向に配向させて、所定の空間に充填することにより構築されたビーズ集積体を提供することを目的とする。

また、本発明は、上記ビーズを含む生体用注入・充填剤、上記ビーズの多孔体としての機能を利用した各種担体等の上記ビーズの用途を提供することを目的とする。

更に、本発明は、骨代替物、間隙充填剤及び細胞培養担体等の所望の用途に応じて適宜選択した貫通孔形状・孔径、及び強度を持つリン酸カルシウムビーズを最小単位として、それらを所定の空間に集合させること、ビーズ同士を焼結すること、もしくは適宜のマトリックスにより連結することにより、当該集合体として完全又は部分的連通孔多孔体を形成する機能を発揮させる技術を提供すること目的とする。

上記課題を解決する本発明は、以下の技術的手段から構成される。

25 (1) 集合体もしくは集積体を構築したときに、完全又は部分的連通孔多孔体を形成する機能を有するリン酸カルシウム成形体であって、

(a) 上記成形体は1つ以上の貫通孔を有する場合がある、
(b) 上記成形体は凝集体又は焼結体（セラミックス）である、
(c) 上記成形体の形状はビーズ状である、
ことを特徴とするリン酸カルシウムビーズ。

5 (2) 長軸直径が200 μm～6 mmの範囲である前記（1）記載のビーズ。

(3) 貫通孔径が100 μm～3 mmであり、かつ長軸直径の70%以下である前記（1）記載のビーズ。

(4) 上記リン酸カルシウムの原料が、水酸アパタイト、炭酸アパタイト、フッ素アパタイト、塩素アパタイト、 β -TCP、 α -TCP、メタリン酸カルシウム、リン酸4カルシウム、リン酸水素カルシウム、リン酸水素カルシウム2水和物の群から選択された1種、あるいは2種以上の混合物である前記（1）記載のビーズ。

10 (5) 上記原料が、上記原料に薬学的に許容される成分を適量混合したものである前記（4）記載のビーズ。

(6) 前記（1）記載のビーズを製造する方法であって、所定の原料を用いて球状凝集体を形成し、これをそのまま又は乾燥、焼結した後、適宜、所定の形状に加工することを特徴とするリン酸カルシウムビーズの製造方法。

15 (7) 前記（1）から（5）のいずれかに記載のビーズを、最小構成ユニットとして集合体を構築し、当該集合体として完全又は部分的連通孔多孔体を形成する機能を有するリン酸カルシウムビーズ集合体としたことを特徴とするリン酸カルシウムビーズ集合体。

(8) 前記（1）から（5）のいずれかに記載の貫通孔を有するビーズを、その貫通孔の一部又は全部を一方向に揃えて、集積体を構築し、当該集積体として完全又は部分的連通孔を形成する機能を有するリン酸カル

ルシウムビーズ集積体としたことを特徴とするリン酸カルシウムビーズ集積体。

(9) 前記(1)から(5)のいずれかに記載の貫通孔を有するビーズを、その貫通孔の一部又は全部を一方向に揃えて、集積することにより
5 、集積体として完全又は部分的連通孔を形成する機能を有するビーズ集積体を構築することを特徴とするリン酸カルシウムビーズ集積体の構築方法。

(10) ビーズを、所定の空間に充填することにより集積する前記(9)記載の集積体の構築方法。

10 (11) ビーズを、焼結により連結することにより集積する前記(9)記載の集積体の構築方法。

(12) ビーズを、適宜のマトリックスにより連結することにより集積する前記(9)記載の集積体の構築方法。

15 (13) 上記マトリックスが、寒天、コラーゲンゲル、アガロースゲル、ポリグリコール酸、ポリ乳酸、ポリグリコール酸とポリ乳酸の共重合体、ポリジオキサン、自己硬化型リン酸カルシウムセメントの群から選択された1種、あるいは2種以上の混合物である前記(12)記載の集積体の構築方法。

20 (14) ビーズの任意の貫通孔に、貫通孔直径以下の太さを持つ単線、複線又は撚り線を通して、その貫通孔の一部又は全部を一方向に揃えて、集積する前記(9)記載のビーズ集積体の構築方法。

(15) 前記(1)から(5)のいずれかに記載のビーズを含むことを特徴とする生体用注入・充填剤。

25 (16) ビーズとマトリックスを含む前記(15)記載の注入・充填剤。

(17) ビーズを1粒/1000m¹以上含有する前記(15)記載の

注入・充填剤。

(18) マトリックスが、コラーゲン、ヒアルロン酸、寒天、コンドロイチン硫酸ナトリウム、コハク酸二ナトリウム無水物、フィブリン、フィブリノーゲン、フィブリン糊、自己硬化型リン酸カルシウムセメント
5 、生理食塩水、血液、体液、骨髓、骨髓液の群から選択された1種、あるいは2種以上の混合物である前記(16)記載の注入・充填剤。

(19) 生体の骨欠損部、骨折部、骨延長部、骨粗鬆症部、又は金属製人工材料と骨母床間の間隙に注入・充填するための前記(15)記載の注入・充填剤。

10 (20) 前記(15)記載の注入・充填剤をシリンジに充填したことを特徴とするシリンジ充填物。

(21) 前記(15)記載の注入・充填剤を注射針もしくは内筒径10mm以下の細管に充填したことを特徴とする細管充填物。

15 (22) 前記(15)記載の注入・充填剤を生分解性のカプセルもしくはケージに充填したことを特徴とするカプセル充填物。

(23) 前記(1)から(5)のいずれかに記載のビーズから構成されることを特徴とする細胞・組織培養用担体。

(24) 前記(23)記載の細胞・組織培養担体と細胞及び適宜の培地から成ることを特徴とする細胞-担体複合体。

20 (25) 細胞が、骨細胞、骨芽細胞、破骨細胞、軟骨細胞、纖維芽細胞、幹細胞、象牙芽細胞、セメント芽細胞、歯根膜細胞の群から選択された1種、あるいは2種以上の混合物である前記(24)記載の複合体。

(26) 前記(24)記載の細胞-担体複合体を利用した細胞療法。

25 (27) 前記(1)から(5)のいずれかに記載のビーズから構成されることを特徴とする薬剤成分用担体。

(28) 前記(27)記載の薬剤成分用担体と任意の薬剤成分から成る

ことを特徴とする薬剤成分ー担体複合体。

(29) 前記(28)記載の薬剤成分ー担体複合体を利用した投薬方法

5 (30) 前記(25)、又は(28)記載の複合体をシリンジに充填したことを特徴とするシリンジ充填物。

(31) 前記(25)、又は(28)記載の複合体を注射針もしくは内筒径10mm以下の細管に充填したことを特徴とする細管充填物。

(32) 前記(25)、又は(28)記載の複合体を生分解性のカプセルもしくはケージに充填したことを特徴とするカプセル充填物。

10

次に、本発明を更に詳細に説明する。

本発明においては、リン酸カルシウム原料として、例えば、水酸アバタイト、炭酸アバタイト、フッ素アバタイト、塩素アバタイト、 β -TCP、 α -TCP、メタリン酸カルシウム、リン酸4カルシウム、リン酸水素カルシウム、リン酸水素カルシウム2水和物、が例示される。しかし、これらに制限されるものではなく、これらと実質的に同効のもの、あるいはこれらと類似のものであれば同様に使用することができる。本発明では、これらの中から選択された1種、あるいは2種以上の混合物が使用される。

20 これらの原料は、自家骨との生着・置換性及び低い細胞毒性の点で好適である。この場合、必要に応じて、これらの原料に、薬学的に許容される任意の成分を適量混合することができる。これらの例として、例えば、亜鉛含有アバタイト、マグネシウム含有 β -TCPが例示される。しかし、これらに制限されるものではない。上記リン酸カルシウム系セラミックス(以下、リン酸カルシウムと記載する)は、天然鉱物であつてもよく、あるいは各種湿式法、乾式法で合成された物であつてもよい

。これらは、B E T 値が $1 \sim 300 \text{ m}^2 / \text{g}$ 程度の粉体であることが望ましい。しかし、これらに制限されるものではない。また、必要に応じて上記原料に、適宜の生分解性成分を 50 v o 1 % 以下まで混合することができる。生分解性成分としては、ポリグリコール酸、ポリ乳酸、ポリグリコール酸とポリ乳酸の共重合体、ポリジオキサン、コラーゲンゲル、アガロースゲル、寒天から選択された 1 種、あるいは 2 種以上の混合物が例示される。これらの例として、例えば、ポリ乳酸を 30 v o 1 % 含浸、被覆により含有する水酸アバタイト、コラーゲンゲルを 50 v o 1 % 混合した β -TCP が例示される。しかし、これらに制限されるものではない。

本発明において、上記リン酸カルシウムは、1 つ以上の貫通孔を有する場合がある球状凝集体もしくは球状セラミック形成体として用いられる。リン酸カルシウムの成形方法としては、好適には、例えば、球体成形用割型を用いて $1 \sim 3000 \text{ kg/cm}^2$ 程度で一軸加圧成形することによって成形する方法、また、 $1000 \sim 10000 \text{ kg/cm}^2$ 程度で冷間静水圧プレス (CIP) した圧粉体を摩滅することによって成形する方法、等が使用される。更に、所望のリン酸カルシウム粉をアルギン酸ナトリウムに懸濁させたものを、多価金属イオンを含有する凝固液に滴下して球状に成形する方法を用いてもよい。この場合、リン酸カルシウム粉及びアルギン酸ナトリウムの濃度は、それぞれ 5 ~ 90 wt %、1 ~ 50 wt % であることが望ましい。

ビーズに貫通孔を形成する方法としては、好適には、例えば、上記割型に貫通孔作製用の突起を設けて形成する方法、また、CIP 後の成形体もしくはアルギン酸ナトリウムの凝固により成形されたビーズに所望の径のニードルで貫通孔を形成する方法、等が使用される。これらの方法を用いて、割型内の突起やニードルによって貫通孔を作製することが

簡便である。この場合、割型やニードルは、選択したリン酸カルシウムとの反応性の低い物であることが望ましい。しかし、本発明は、これらに制限されるものではなく、適宜の手段を使用することができる。

貫通孔の孔径は、用途（骨形成、骨細胞培養担体等）に合わせて適宜選択される。例えば、骨欠損部・骨折部充填には直径 200～600 μm、金属製人工材料と骨母床間の間隙充填には直径 100～300 μm、骨延長部位に対する注入剤としては直径 200～1000 μm、細胞培養担体としては直径 200～1000 μm、薬剤担体としては直径 100～150 μm が好適である。本発明において、「ビーズ」とは、基 10 本的には、貫通孔の有無によらず、アスペクト比（長軸／短軸）が 1～3 の塊状物のことを意味するが、これらと実質的に均等もしくは同等のものも包含される。

成形体の焼結は、用いたリン酸カルシウムに応じた焼結温度で実施される。焼結前のリン酸カルシウムセラミックスビーズは、乾燥してもよいししなくてもよい。焼結後のリン酸カルシウムセラミックスビーズは、切削等により、所望の大きさ、真球度に整えてよいし、整えなくてよい。また、貫通孔形状を適宜の方法で整えてよいし、整えなくてよい。更に、アルギン酸ナトリウムの凝固により成形されたビーズ、及び適宜の生分解性成分を 50 v o 1 % 以下含有したリン酸カルシウム 20 製のビーズにおいては、用途に応じて、適宜、焼結せずにそのままもしくは乾燥状態で用いてよい。ビーズの直径は、用途（骨形成、骨細胞培養担体等）に合わせて適宜選択される。例えば、骨欠損部・骨折部充填には直径 1～3 mm、金属製人工材料と骨母床間の間隙充填には直径 200～2000 μm、骨延長部位に対する注入剤としては直径 500～3000 μm、細胞培養担体としては直径 300～3000 μm、薬剤担体としては直径 200～1000 μm が好適である。

上記ビーズは、そのまま用いてもよいし、必要に応じて（例えば、補強、ビーズ表面の平滑さを改善する目的で）、適宜の生分解性成分を成形体内部に含浸、もしくは表面にコーティングして用いてもよい。例えば、多孔質水酸アパタイトビーズを溶融状態のポリ乳酸に、脱気しながら浸漬することにより、ビーズ内部の空隙にポリ乳酸が複合化された水酸アパタイトビーズを得ることができる。また、平均粒径 $10 \mu\text{m}$ に調整されたポリグリコール酸を、水酸アパタイトセラミックスビーズ表面にまぶし、加熱することにより水酸アパタイト表面にポリグリコール酸で被覆された水酸アパタイトビーズを得ることができる。

10 本発明により得られる 1 つ以上の貫通孔を有する場合があるリン酸カルシウムビーズは、適宜加工条件を選択することにより、 $200 \sim 600 \mu\text{m}$ の直径、及び $100 \sim 3000 \mu\text{m}$ の貫通孔（ただし、ビーズ直径の 70 % 以下）を持ち得る。貫通孔形成は用途に応じて適宜であり、設けても設けなくてもよい。また、成形体の調製方法により、骨欠損部への埋入等の目的に応じた機械的特性（破壊荷重： $0.5 \sim 200 \text{ N} / 1 \text{ 個}$ ）を持ち得る。これらの要件を具備した本発明のビーズは、基本的には、所定の原料を用いて作製した凝集体に、適宜、必要に応じて、貫通孔を形成し、これをそのまま又は乾燥、焼結した後、適宜、必要に応じて、所定の形状に加工することにより作製される。

15 20 すなわち、上記ビーズは、好適には、例えば、リン酸カルシウム原料をアルギン酸ナトリウムと混合しスラリー状にする行程、上記スラリーを直径 2 mm 程度の球状に凝固液させる行程、スラリーの球状成形体に $\phi 500 \mu\text{m}$ のステンレスワイヤーで貫通孔を開ける行程（貫通孔を設ける場合）、これを 60°C で乾燥した後に 1250°C で 1 時間焼成する工程、により作製される。これにより、直径 1 mm 、貫通孔径 $250 \mu\text{m}$ 、圧縮試験における最大点荷重 4.0 N のアパタイトセラミックスビーズを得ることができる。

ズが得られる。しかし、本発明は、これらの方法に制限されるものではない。

本発明により得られる1つ以上の貫通孔を有する場合があるリン酸カルシウムビーズは、多孔体の最小構成単位（ユニット）と成り得るもの 5 であり、その集合状態において完全又は部分的連通孔多孔体を形成する機能を発揮する。本発明において、「完全又は部分的連通孔」とは、多孔体内の所望の孔径を有する全部又は一部の孔が連結して形成する貫通孔ネットワークのことを意味する。このネットワークを形成する連通孔は、多孔体の全域に渡る円滑な物質輸送を高効率で実現する場である。 10 それにより、血流、細胞、細胞のグロースファクター、酸素等を多孔体の全域に高効率で供給することができる。

本発明において、1つ以上の貫通孔を有する場合があるリン酸カルシウムビーズ集積体は、上記ビーズ集合体の所望の作用効果を効率よく発揮するように、ビーズの貫通孔を所定の方向に規則的に配向させたもの 15 である。具体的には、ビーズの貫通孔の一部又は全部を一方向に揃えて、最小構成要素として所定の形状に集積することにより構築されたものである。これにより、上記ビーズは、集積体として完全又は部分的連通孔多孔体を形成する機能を発揮する。

本発明のリン酸カルシウムビーズ集合体及び集積体は、ビーズを所定の空間に充填すること、ビーズ同士を焼結すること、もしくは適宜のマトリックスにより連結することにより構築されるが、その構築方法として、例えば、ビーズの任意の貫通孔をナイロンワイヤー等の単線、複線又は撚り線等で連結したものを所定のケージ空間に充填することにより構築する方法、上記連結ビーズを焼結する方法、貫通孔の一部又は全部 20 を一方向に揃えたビーズをコラーゲンゲルで固める方法が例示される。 25 しかし、これらに制限されるものではなく、適宜の方法が使用される。

貫通孔が一定の方向に配向したビーズ集積体においては、貫通孔ネットワーク内の物質輸送を所望の方向に限定できるため、その作用効果が一層高効率で発揮される。

本発明のリン酸カルシウム成形体は、完全な貫通孔（貫通孔を有するビーズの場合）と、注射器等により創傷に注入可能であり、任意形状の間隙を充填できる形状を有する。すなわち、本発明のビーズは、多孔体の最小構成要素であり、経皮的な注入又は外科的な手法により、任意形状の骨欠損部・骨折部及び金属製人工材料と骨母床間の間隙に注入・充填することで、完全又は部分的連通孔多孔体を形成することができる。

また、上記ビーズは、骨粗鬆症部や骨延長術に伴う比較的大きな骨欠損部の骨形成を助けるための注入剤となり得る。また、細胞培養や薬剤の担体と成り得る。貫通孔の径は、補綴部位の骨形成に適した径や、培養対象細胞の大きさにすることができる。更に、リン酸カルシウム系セラミックスビーズの機械的特性は、使用する原料粉体粒径、ビーズ成形時の圧粉、焼結条件及び生分解性成分との複合化によって適宜制御することができる。上記ビーズ表面の平滑さは、適宜の生分解性成分による被覆により改善することができる。

本発明のビーズは、これを滅菌梱包して製品化される。例えば、上記ビーズを適宜の袋やカプセルの空間にパックして充填物を調製し、これを滅菌、梱包して所定の製品とすることができます。この場合、上記ビーズ集合体や貫通孔の一部又は全部を一方向に配向させたビーズ集積体を対象とすることができます。また、本発明では、上記ビーズを含む生体用注入・充填剤をシリンジに充填し、シリンジ充填物とすることができます。この場合、ビーズの詰まったシリンジを滅菌する方法、上記注入・充填剤を滅菌後、シリンジに充填する方法等が採用されるが、これらに制限されるものではない。更に、本発明では、上記ビーズを含む生体用注

注入・充填剤を注射針もしくは内筒径10mm以下の細管に充填し、細管充填物とすることができます。この場合、ビーズの詰まった細管を滅菌する方法、上記注入・充填剤を滅菌後、細管に充填する方法等が採用されるが、これらに制限されるものではない。また、本発明では、上記ビーズに任意の薬剤成分を担持させて薬剤成分-担持複合体を作製することができる。これらの複合体として、例えば、抗ガン剤、制ガン剤、抗炎症剤、BMPなどが例示される。

しかし、これらに制限されるものではなく、適宜の薬剤成分を担持させることができる。

10 本発明においては、1つ以上の貫通孔を有する場合があるリン酸カルシウムスピーズを最小構成単位（ユニット）としてビーズ集合体が構築される。それにより、完全又は部分的連通孔を形成する機能を有する多孔体を構築することができる。本発明のリン酸カルシウムビーズ集合体が形成する完全又は部分的連通孔多孔体の連通孔内においては、物質輸送が円滑である。そのために、多孔体内における細胞の分化・増殖が円滑に行われる。特に、これを人工骨として用いた場合、連通孔内には早期の骨形成が起こり、速やかに自家骨と置換される。ビーズの貫通孔の一部又は全部が一方向に配向した貫通孔を有するリン酸カルシウムビーズ集積体においては、貫通孔ネットワーク内の物質輸送を所望の方向に限定できる。そのため、連通孔の作用が一層高効率化される。

本発明のビーズは、注射器を使用して注入可能な形状・機械的特性を持つ。そのため、外科的方法に比べ低侵襲な経皮的な注入により、骨欠損部に、骨伝導が期待できるリン酸カルシウムの完全連通孔多孔体を形成することができる。また、本発明のビーズを用いた注入療法は、骨粗鬆症部位及び仮骨延長部位の骨形成を助けることができる。所望の機械的特性のビーズを目的部位に集合・集積することにより、目的部位を補

強することができる。最小構成要素であるビーズ径を適宜選択することにより、任意形状の骨欠損部・骨折部及び金属製人工材料と骨母床間の間隙を充填することができる。生体内への充填に伴うビーズの破損が少ないため、細胞毒性が懸念される粒径の粉体を発生しない。ビーズの貫通孔、ミクロポア及び表面に、所望の薬剤成分を担持・除放することができる。ビーズの貫通孔、ミクロポア及び表面に、所望の細胞を担持、培養することができる。

図面の簡単な説明

10 図1は、HAビーズの中心を通り、互いに直行する $\phi 250\mu\text{m}$ の貫通孔を3本有する直径1mmのHAセラミックスピーズの模式図を示す。

図2は、HAセラミックスピーズを充填したシリンジの模式図を示す。

15 図3は、貫通孔を3本有するHAセラミックスピーズを $1 \times 1 \times 1\text{cm}$ の空間に充填したときに構築される完全連通孔多孔体の一例を示す。

図4は、実施例6において作製された $\phi 300\mu\text{m}$ の貫通孔を1つ有する直径1mmのHAセラミックスピーズの一例を示す。

図5は、実施例6の動物実験結果の一例を示す。

20 a：貫通孔に新生骨組織、新生血管、骨梁形成を伴う骨芽細胞の浸入が認められる。

b：ビーズ間隙にも新生骨形成が認められる。

c：ビーズ内部に細胞の浸入が認められる。

25 図6は、実施例7の動物実験結果の一例を示す。緻密骨レベルにあるビーズの貫通孔及びビーズ間隙が、血管や髓腔を伴う新生骨組織により充填されており、骨欠損治癒がほぼ完了していることが認められる。

発明を実施するための最良の形態

以下、本発明を実施例に基づいて具体的に説明するが、本発明はこれらによって何ら限定されるものではない。

5 実施例 1

0. 5 w t %のアルギン酸ナトリウム水溶液に、粒径 150 μm 以下に調製した水酸アパタイト (HA) 粉を 10 w t % になるように混合し、均一なスラリーとした。このスラリーを 50 ml シリンジに充填し、1 w t % の塩化カルシウム水溶液に滴下することにより HA をビーズ状 10 に成形した。HA ビーズが乾燥する前に、HA ビーズの中心を通り、互いに直行する 3 本の貫通孔を $\phi 400 \mu\text{m}$ のカーボンシャフトにより形成した。貫通孔形成後の HA ビーズを 100 °C で 12 時間乾燥した後、1200 °C で 1 時間焼結した。

焼結後、HA ビーズを、800 番のダイヤモンド砥粒を内壁にコーティングした円形チャンバー内で移動・摩滅することにより、直径 1 mm の球状に成形した。このような成形により、互いに直行する $\phi 250 \mu\text{m}$ の貫通孔を 3 本有する直径 1 mm の HA セラミックスビーズが作製された。上記ビーズ一個の圧縮試験における最大点荷重は 50 N であった。図 1 に、貫通孔を有する HA セラミックスビーズ模式図を示す。上記 15 方法で作製したビーズを $1 \times 1 \times 1 \text{ cm}$ の空間に充填することにより、完全連通孔多孔体を形成することができた。また、上記方法で作製した HA ビーズ 100 個をコラーゲンゲル 50 ml に懸濁させて懸濁物を調製した。この懸濁物は、破損することなく 16 G の針を装着したシリンジで吐出することができた。図 2 に、上記 HA ビーズをシリンジに充填 20 した充填物の模式図を示す。

実施例 2

市販のHA粉体をジェットミルによって1 μm 以下に粉碎した。これを、 $\phi 1\text{ mm} \times 10\text{ mm}$ のロストワックスと共に $\phi 5 \times 10\text{ mm}$ の円柱形に一軸加圧成形した。ロストワックスの位置は円柱の長軸と一致して

5 いることが望ましい。この圧粉体を1200°Cで1時間焼結した後、3 mm程度の長さに切断し、400番のダイヤモンド砥粒を内壁にコーティングした円形チャンバー内を1 kg/cm²の空気圧で回転させて、直径1 mmのビーズに成形した。このような成形により、圧縮強度10

10 0 MPa（強度は貫通孔のない円柱状態で測定）で、 $\phi 600\text{ }\mu\text{m}$ の貫通孔を1つ有するHAビーズが作製された。上記方法で作製したHAビーズの貫通孔に $\phi 300\text{ }\mu\text{m}$ のナイロンワイヤーを通して複数ビーズを拘束することにより、貫通孔が配向したHAビーズ集積体を構築した。

図3に、上記HAビーズを、最小構成ユニットとして構築した、集積体として完全連通孔多孔体を形成する機能を有するビーズ集積体の模式図

15 (ワイヤーは図示せず) を示す。

実施例 3

1 wt %のアルギン酸ナトリウム水溶液に、粒径100 μm 以下に調製した β -TCP粉を60 wt %になるように混合し、均一なスラリーとした。このスラリーを50 mlシリンジに充填し、5 wt %の塩化カルシウム水溶液に滴下することにより β -TCPをビーズ状に成形した。塩化カルシウム水溶液中において、 $\phi 300\text{ }\mu\text{m}$ のカーボンシャフトにより β -TCPビーズに互いに直交し、かつビーズの中心を通るような $\phi 300\text{ }\mu\text{m}$ の貫通孔を2つ形成した。

25 貫通孔形成後の β -TCPビーズを塩化カルシウム水溶液から取り出し、超純水で十分すすいだ後、超純水中で保存した。このような成形に

より、 $\phi 250 \mu\text{m}$ の貫通孔を2つ有する直径1mm以下 β -TCPビーズが作製された。上記方法で作製した β -TCPビーズ100個をヒアルロン酸50mlと混合し懸濁物を調製した。この懸濁物は、破損することなく16Gの針を装着したシリンジで充填・吐出することができた。

実施例4

0. 3mol/1の水酸化カルシウム懸濁液に、0. 5mol/1のリン酸水溶液を滴下することにより湿式合成したHA粉体を、 $\phi 16 \times 10 \times 6 \text{ mm}$ の円柱形に一軸加圧成形した。この圧粉体を3mm程度の大きさに碎き、それぞれの破片のほぼ中心に直径400 μm の貫通孔を形成した。貫通孔の形成には $\phi 400 \mu\text{m}$ のドリルを使用した。貫通孔付きHA粒を1200°Cで1時間焼結した。この焼結体は、圧縮強度300MPaであった。

15 焼結した貫通孔付きHA粒を、400番のダイヤモンド砥粒を内壁にコーティングした円形チャンバー内を1kg/cm²の空気圧で回転させて、直径1mmのビーズに成形した。このような成形により、 $\phi 250 \mu\text{m}$ の貫通孔を1つ有するHAビーズが作製された。上記方法で作製したHAビーズを模擬骨と人工股関節チタン製システムの間隙に充填した

20 それにより、模擬骨に人工股関節を強固に固定することができた。

実施例5

2wt%のアルギン酸ナトリウム水溶液に、粒径200 μm 以下に調製したHA粉を60wt%になるように混合し、均一なスラリーとした

25 このスラリーをシリンジに充填し、1wt%の塩化カルシウム水溶液に滴下することによりHAをビーズ状に成形した。HAビーズが乾燥す

る前に、 $\phi 300\mu\text{m}$ のカーボンシャフトによりHAビーズの中心に $\phi 300\mu\text{m}$ の貫通孔1つを形成した。貫通孔形成後のHAビーズを凍結乾燥した後、 1200°C で1時間焼結した。

焼結後、HAビーズを、800番のダイヤモンド砥粒を内壁にコーティングした円形チャンバー内で移動・摩滅することにより、直径1mmの球状に成形した。このような成形により、 $\phi 300\mu\text{m}$ の貫通孔を1つ有するHAセラミックスビーズが作製された。上記ビーズ一個の圧縮試験における最大点荷重は100Nであった。上記方法で作製したHAビーズを $\phi 25\text{mm}$ のポリスチレン製カルチャーディッシュに敷き詰め10その上で骨芽細胞の培養を試みた。その結果、骨芽細胞がビーズ表面及び貫通孔内で付着、増殖することが分かった。

実施例 6

1wt%のアルギン酸ナトリウム水溶液に、遊星ポールミルで1時間粉碎した水酸アバタイト(HA)粉を30wt%になるように混合し、均一なスラリーとした。このスラリーをデジタルピペットに充填し、4 μl ずつ2.5wt%の塩化カルシウム水溶液に滴下することにより、球状HA凝集体とした。球状HA凝集体が乾燥する前に、 $\phi 500\mu\text{m}$ のステンレスワイヤーを用いて、球状HA凝集体の中心を通る貫通孔を形成した。貫通孔形成後の球状HA凝集体を 60°C で12時間乾燥した後、 1250°C で1.5時間焼結し、HAビーズを得た。

焼結後、HAビーズの貫通孔を、 $\phi 300\mu\text{m}$ の電着ダイヤモンドバーでトリミングした。このような成形により、HAビーズの中心を通る $\phi 300\mu\text{m}$ の貫通孔を1つ有する直径 $1\pm0.2\text{mm}$ のHAビーズが作製された(図4)。上記ビーズ一個の圧縮試験における最大点荷重は40Nであった。

上記方法で作製したHAビーズ100個を、12週齢の健康雄SPFウサギの脛骨近位端に作製した径5mm、深さ5mmの骨欠損孔に埋植し、骨欠損孔に多孔体を形成した。多孔体形成後、骨膜・皮下組織及び皮膚を縫合し、術部を閉じた。

5 ビーズ埋植後7日目に、動物をSodium pentobarbital約50mg/kg(i.v.)麻酔下に放血により安楽死させ、脛骨埋植部を摘出し、10%の中性緩衝ホルマリンに固定した。固定後、埋植部をイオン交換樹脂法により脱灰後、厚さ約3μmの切片を作製し、Hematoxylin・eosin染色を施し、形態学的な評価を実施した。上記評価により、貫通孔に浸入する新生骨組織、新生血管、骨梁形成を伴う骨芽細胞の浸入が認められた(図5A)。ビーズ間隙にも新生骨形成が認められた(図5B)。上記新生組織により各ビーズは連結されており、ビーズの埋入部位からの移動は無かった。また、ビーズ内部に細胞の浸入が認められた(図5C)。

15

実施例7

実施例6で作製したHAビーズ100個を、12週齢の健康雄SPFウサギの脛骨近位端に作製した径5mm、深さ5mmの骨欠損孔に埋植し、骨欠損孔に多孔体を形成した。多孔体形成後、骨膜・皮下組織及び皮膚を縫合し、術部を閉じた。

ビーズ埋植後30日目に、動物をSodium pentobarbital約50mg/kg(i.v.)麻酔下に放血により安楽死させ、脛骨埋植部を摘出し、10%の中性緩衝ホルマリンに固定した。固定後、埋植部をイオン交換樹脂法により半脱灰状態にした後、厚さ約3μmの切片を作製し、Hematoxylin・eosin染色を施し、形態学的な評価を実施した。上記評価においては、緻密骨レベルにあるビーズの貫通孔及びビーズ間隙が、血

管や髓腔を伴う新生骨組織により充填されており、骨欠損治癒がほぼ完了していることが認められた(図6)。

実施例8

5 (セメント接着集合体作製&CT評価)

1 wt %のアルギン酸ナトリウム水溶液に、遊星ポールミルで1時間粉碎した水酸アバタイト(HA)粉を30 wt %になるように混合し、均一なスラリーとした。このスラリーをデジタルルピベットに充填し、3 μ lずつ5 wt %の塩化カルシウム水溶液に滴下することにより、球状10 HA凝集体とした。球状HA凝集体を60°Cで12時間乾燥した後、1250°Cで1.5時間焼結し、HAビーズを得た。このような成形により、直径0.9±0.2mmのHAビーズが作製された。上記ビーズ一個の圧縮試験における最大点荷重は50Nであった。

作製したHAビーズ表面に、第四リン酸カルシウム(TeCP)と第15 ニリン酸カルシウム(DCP)を等モルずつ混合したものを超純水で練和することにより調製した自己硬化型リン酸カルシウムセメントペーストを塗布し、 $\phi 5 \times 5$ mmの空間に充填し、 $\phi 5 \times 5$ mmの多孔体を作製した。上記方法で作製されたHA多孔体の空隙率は45%であり、空隙は全て連結した完全連通孔ネットワークを形成していることが、マイ20 クロX線CT撮像データにより確認された。

実施例9

貫通孔に $\phi 250 \mu$ mのステンレスワイヤーを通すことにより、実施例6で作製したHAビーズを5個ずつ集積した。更に、上記集積体16 25 セットを $\phi 5 \times 5$ mmの空間に設置し、寒天で凝固・拘束し、ステンレスワイヤーを抜去することにより、貫通孔が1方向に配向したHA集積

体を作製することができた。

実施例 1 0

実施例 6 で作製した HA ピーズの表面に、平均粒径 10 μm に調整したポリ乳酸をまぶし、100 °C で 24 時間加熱することにより、表面が 50 % 以上ポリ乳酸で被覆された HA ピーズを作製することができた。上記 HA ピーズを $\phi 5 \times 5 \text{ mm}$ の空間を持つテフロン型に充填し、100 °C で加熱することにより、ポリ乳酸により連結された HA ピーズ集合体を作製することができた。上記方法で作製された HA 多孔体の空隙率は 40 % であり、空隙は全て連結した完全連通孔ネットワークを形成していることが、マイクロ X 線 CT 撮像データにより確認された。

比較例 1

実施例 1 で用いた HA 粉にポリエチレンピーズを 30 wt % 混合し、 $\phi 16 \times 6 \text{ mm}$ の円柱形に一軸加圧成形後、1200 °C で 1 時間焼結して HA 多孔体を得た。この多孔体の気孔率は 60 % であったが、マイクロ X 線 CT による評価により気孔の 50 % が閉鎖気孔であることが分かった。

上記方法で作製した多孔体を 1 mm 程度の小片に破碎して、模擬骨と人工股関節チタン製システムの間隙に充填した。その結果、破碎に伴ってできた多孔体の小突は充填作業により圧碎され、模擬骨に人工股関節を強固に保持することができなかつた。

上記方法で作製した多孔体を $\phi 5 \times 5$ の円柱に成形し、実施例 7 と同様の方法で動物実験による骨伝導脳評価をしたが、多孔体表面の気孔以外に骨の浸入が認められなかつた。

参考例 1

実施例 1 で作製した HA ピーズを、 $1 \times 1 \times 1 \text{ cm}$ の骨欠損部に充填した。それにより、骨欠損部に完全連通孔多孔体を形成することができた。その結果、骨欠損部の強度を上げることができた。

5

参考例 2

実施例 2 で作製した HA ピーズ集積体の貫通孔の毛管凝集現象を利用して、 BMP を一方向に吸い上げることができた。また、上記集積体の貫通孔開口部近傍に BMP を徐放することができた。

10

参考例 3

実施例 4 で作製した HA ピーズを、骨とチタン製インプラントの間隙に充填することにより、骨にチタン製インプラントを強固に固定することができた。

15

産業上の利用可能性

以上詳述したように、本発明は、1 つ以上の貫通孔を有する場合があるリン酸カルシウムピーズ及びその生体適合材料としての新しい利用形態に係るものであり、本発明により、以下のような格別の作用効果が奏

20

される。

(1) 1 つ以上の貫通孔を有する場合があるリン酸カルシウムピーズが得られる。

(2) 上記ピーズを最小構成要素としたピーズ集合体は、当該集合体として完全又は部分的連通孔多孔体を形成する機能を有する。

25 (3) 上記ピーズの貫通孔の一部又は全部を一定方向に配向させたピーズ集積体が得られる。

(4) 上記ビーズ集積体は、当該集積体として完全連通孔ネットワークを形成する機能を有する。

(5) 上記完全又は部分的連通孔内においては、物質輸送が円滑であるため、上記ビーズ集合体、及びビーズ集積体を、例えば、人工骨として用いた場合、骨形成に係る細胞の分化・増殖が円滑に行われる。

(6) 上記ビーズ集積体では、貫通孔ネットワーク内の物質輸送を所望の方向に特定できるため、一層高い作用効果が奏される。

(7) 上記ビーズ、ビーズ集合体及びビーズ集積体は、注射器を使用して生体内に注入・充填可能な形状・強度を有するため、再生医療に対応する生体用注入・充填剤として有用である。

(8) また、これらは、完全又は部分的連通孔を形成する多孔体としての機能を有するため、例えば、細胞・組織培養担体、薬剤成分担体などとして有用である。

(9) 更に、上記ビーズ・細胞等複合体は、より積極的な再生医療に対応する注入療法の手段として有用である。

請求の範囲

1. 集合体もしくは集積体を構築したときに、完全又は部分的連通孔多孔体を形成する機能を有するリン酸カルシウム成形体であって
5 、
 - (1) 上記成形体は1つ以上の貫通孔を有する場合がある、
 - (2) 上記成形体は凝集体又は焼結体（セラミックス）である、
 - (3) 上記成形体の形状はビーズ状である、ことを特徴とするリン酸カルシウムビーズ。
- 10 2. 長軸直径が $200\text{ }\mu\text{m}$ ~ 6 mm の範囲である請求項1記載のビーズ。
3. 貫通孔径が $100\text{ }\mu\text{m}$ ~ 3 mm であり、かつ長軸直径の70%以下である請求項1記載のビーズ。
- 15 4. 上記リン酸カルシウムの原料が、水酸アパタイト、炭酸アバタイト、フッ素アバタイト、塩素アバタイト、 β -TCP、 α -TCP、メタリン酸カルシウム、リン酸4カルシウム、リン酸水素カルシウム、リン酸水素カルシウム2水和物の群から選択された1種、あるいは2種以上の混合物である請求項1記載のビーズ。
- 20 5. 上記原料が、上記原料に薬学的に許容される成分を適量混合したものである請求項4記載のビーズ。
6. 請求項1記載のビーズを製造する方法であって、所定の原料を用いて球状凝集体を形成し、これをそのまま又は乾燥、焼結した後、適宜、所定の形状に加工することを特徴とするリン酸カルシウムビーズの製造方法。
- 25 7. 請求項1から5のいずれかに記載のビーズを、最小構成ユニットとして集合体を構築し、当該集合体として完全又は部分的連通孔

多孔体を形成する機能を有するリン酸カルシウムビーズ集合体としたことを特徴とするリン酸カルシウムビーズ集合体。

8. 請求項 1 から 5 のいずれかに記載の貫通孔を有するビーズを、その貫通孔の一部又は全部を一方向に揃えて、集積体を構築し、当該集積体として完全又は部分的連通孔を形成する機能を有するリン酸カルシウムビーズ集積体としたことを特徴とするリン酸カルシウムビーズ集積体。

9. 請求項 1 から 5 のいずれかに記載の貫通孔を有するビーズを、その貫通孔の一部又は全部を一方向に揃えて、集積することにより、集積体として完全又は部分的連通孔を形成する機能を有するビーズ集積体を構築することを特徴とするリン酸カルシウムビーズ集積体の構築方法。

10. ビーズを、所定の空間に充填することにより集積する請求項 9 記載の集積体の構築方法。

11. ビーズを、焼結により連結することにより集積する請求項 9 記載の集積体の構築方法。

12. ビーズを、適宜のマトリックスにより連結することにより集積する請求項 9 記載の集積体の構築方法。

13. 上記マトリックスが、寒天、コラーゲンゲル、アガロースゲル、ポリグリコール酸、ポリ乳酸、ポリグリコール酸とポリ乳酸の共重合体、ポリジオキサン、自己硬化型リン酸カルシウムセメントの群から選択された 1 種、あるいは 2 種以上の混合物である請求項 1 2 記載の集積体の構築方法。

14. ビーズの任意の貫通孔に、貫通孔直径以下の太さを持つ単線、複線又は撚り線を通して、その貫通孔の一部又は全部を一方向に揃えて、集積する請求項 9 記載のビーズ集積体の構築方法。

15. 請求項1から5のいずれかに記載のピーズを含むことを特徴とする生体用注入・充填剤。

16. ピーズとマトリックスを含む請求項15記載の注入・充填剤。

5 17. ピーズを1粒／1000ml以上含有する請求項15記載の注入・充填剤。

18. マトリックスが、コラーゲン、ヒアルロン酸、寒天、コンドロイチン硫酸ナトリウム、コハク酸二ナトリウム無水物、フィブリン、フィブリノーゲン、フィブリン糊、自己硬化型リン酸カルシウムセメント、生理食塩水、血液、体液、骨髓、骨髓液の群から選択された1種、あるいは2種以上の混合物である請求項16記載の注入・充填剤。

19. 生体の骨欠損部、骨折部、骨延長部、骨粗鬆症部、又は金属製人工材料と骨母床間の間隙に注入・充填するための請求項15記載の注入・充填剤。

15 20. 請求項15記載の注入・充填剤をシリンジに充填したことを特徴とするシリンジ充填物。

21. 請求項15記載の注入・充填剤を注射針もしくは内筒径10mm以下の細管に充填したことを特徴とする細管充填物。

22. 請求項15記載の注入・充填剤を生分解性のカプセルもしくはケージに充填したことを特徴とするカプセル充填物。

23. 請求項1から5のいずれかに記載のピーズから構成されることを特徴とする細胞・組織培養用担体。

24. 請求項23記載の細胞・組織培養担体と細胞及び適宜の培地から成ることを特徴とする細胞-担体複合体。

25 25. 細胞が、骨細胞、骨芽細胞、破骨細胞、軟骨細胞、繊維芽細胞、幹細胞、象牙芽細胞、セメント芽細胞、歯根膜細胞の群から選

択された 1 種、あるいは 2 種以上の混合物である請求項 24 記載の複合体。

26. 請求項 24 記載の細胞ー担体複合体を利用した細胞療法

5 27. 請求項 1 から 5 のいずれかに記載のビーズから構成されることを特徴とする薬剤成分用担体。

28. 請求項 27 記載の薬剤成分用担体と任意の薬剤成分から成ることを特徴とする薬剤成分ー担体複合体。

29. 請求項 28 記載の薬剤成分ー担体複合体を利用した投薬
10 方法。

30. 請求項 25、又は 28 記載の複合体をシリンジに充填したことを特徴とするシリンジ充填物。

31. 請求項 25、又は 28 記載の複合体を注射針もしくは内筒径 10 mm 以下の細管に充填したことを特徴とする細管充填物。

15 32. 請求項 25、又は 28 記載の複合体を生分解性のカプセルもしくはケージに充填したことを特徴とするカプセル充填物。

1/6

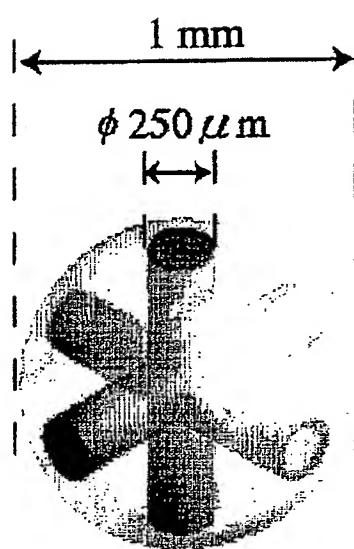


図 1

2/6

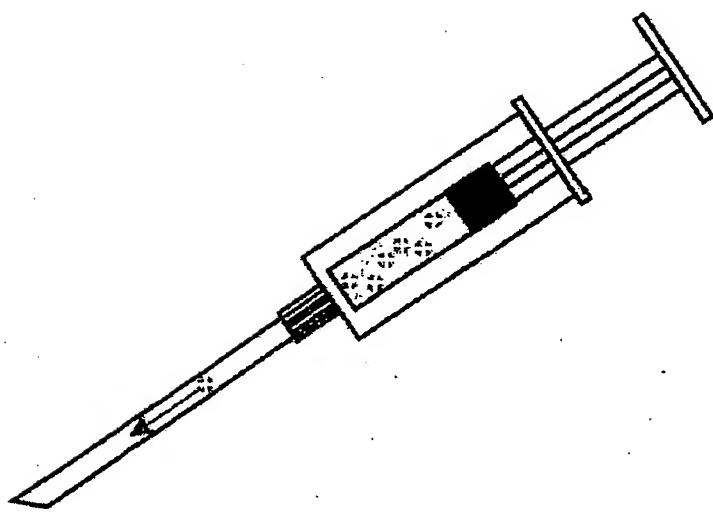


図 2

3/6

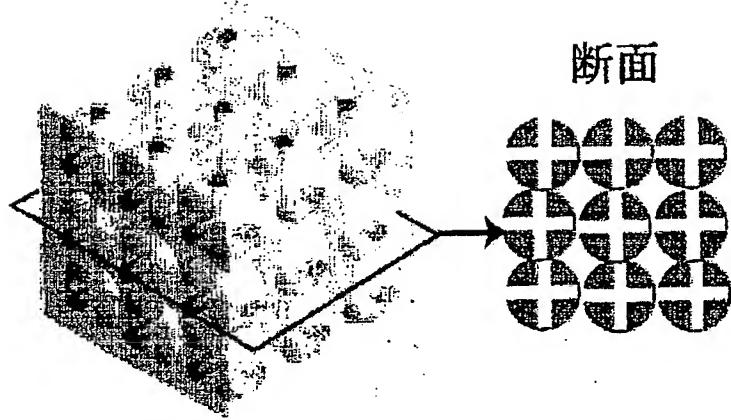


図 3

4/6

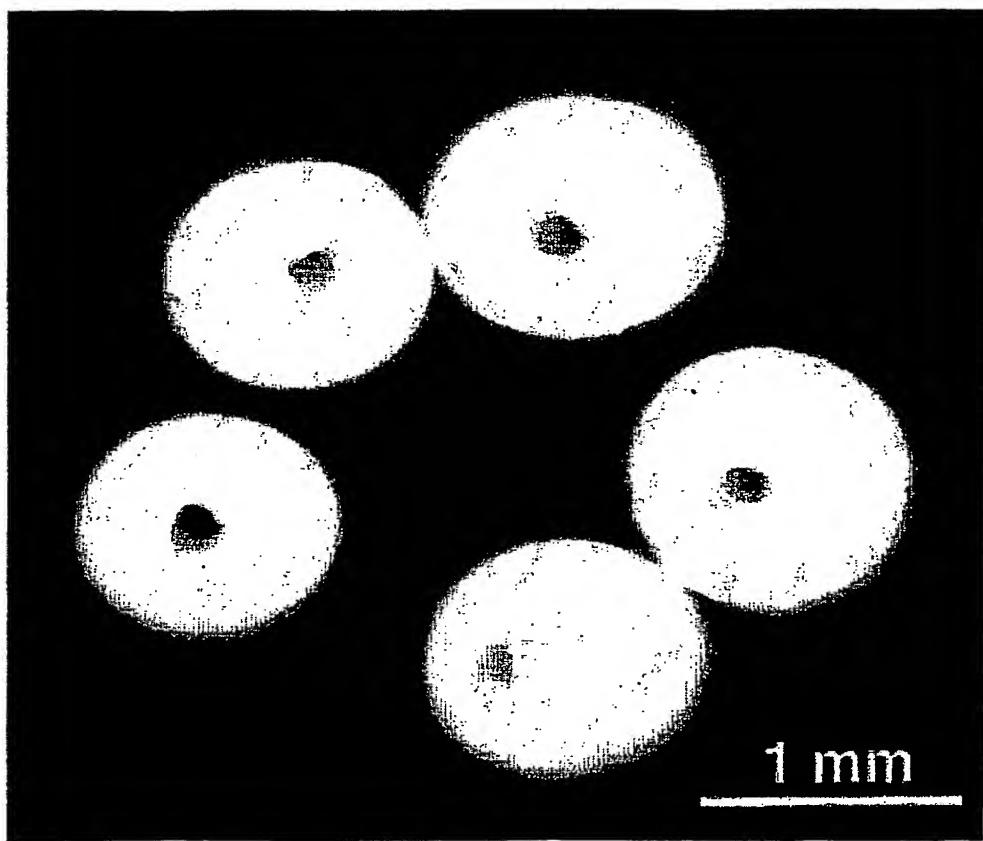


図 4

5/6

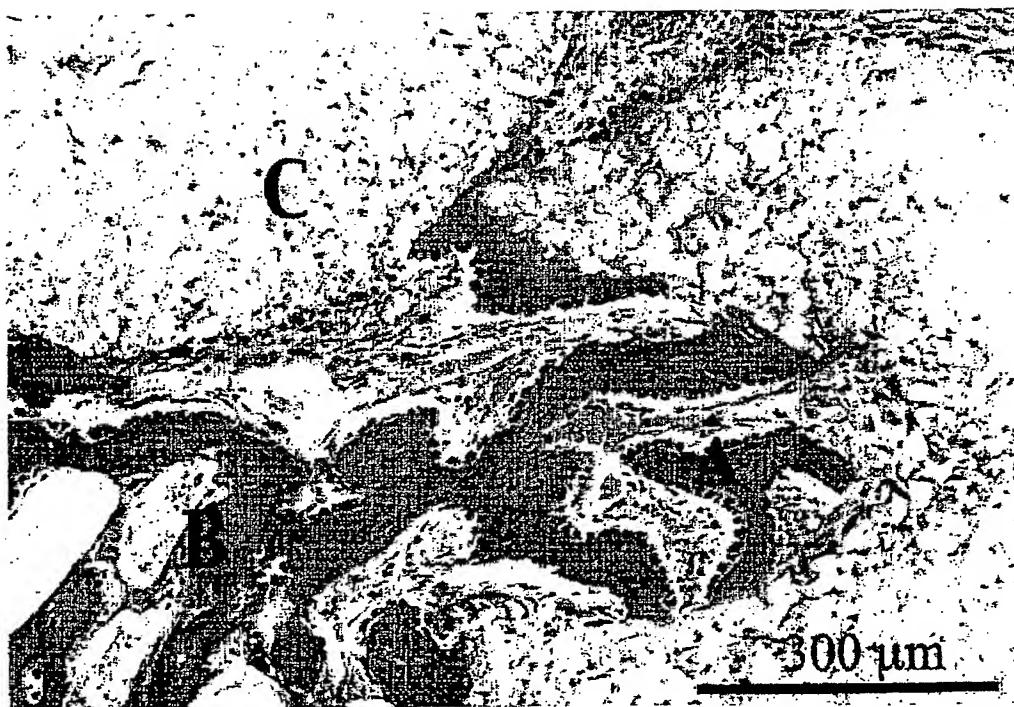


図 5

6/6



図 6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP03/02922A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁷ A61L27/12, C01B25/32

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl⁷ A61L27/12, C01B25/32Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Jitsuyo Shinan Koho 1926-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2003
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2003 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2003Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CA/MEDLINE/BIOSIS/EMBASE (STN), WPI/L (QUESTEL), JICST FILE (JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 87/07495 A1 (COORS BIOMEDICAL CO.), 17 December, 1987 (17.12.87), Full text; particularly, Claims; page 8, line 25 to page 9, line 3 & AU 8775448 A & EP 310623 A & US 4839215 A & GB 2212488 A & DE 3790291 T & JP 01-502642 A & CA 1307742 C	1-25, 27, 28, 30-32
X Y	JP 04-047422 U (Asahi Optical Co., Ltd.), 22 April, 1992 (22.04.92), Full text; particularly, Claims 1, 2 (Family: none)	1-9, 14 15-22

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

"A"	Special categories of cited documents: document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T"	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E"	earlier document but published on or after the international filing date	"X"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&"	document member of the same patent family
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		

Date of the actual completion of the international search 12 May, 2003 (12.05.03)	Date of mailing of the international search report 27 May, 2003 (27.05.03)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/02922

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 08-336584 A (Director General of National Institute for Research in Inorganic Materials of Science and Technology Agency), 24 December, 1996 (24.12.96), Claim 1 (Family: none)	1-6
Y		15-22
X	US 4960426 A (Denatal Kagaku Kabushiki Kaisha), 02 October, 1990 (02.10.90), Claim 1	1-6
Y	& DE 3814467 A & JP 01-056056 A & FR 2619720 A & GB 2209000 A & IT 1217575 B & CA 1300028 C	15-22
X	JP 03-294221 A (NGK Spark Plug Co., Ltd.), 25 December, 1991 (25.12.91), Claim 1 (Family: none)	1-6, 27, 28
Y		30-32

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/02922

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 26, 29

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 26 and 29 pertain to methods of therapeutic treatment of human organism and thus relates to a subject matter which this International Searching Authority is not required to search under the provisions of PCT Article 17(2)(a)(i) and Rule 39.1(iv).

2. Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
(see extra sheet)

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims:

2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP03/02922

Continuation of Box No. II of continuation of first sheet(1)

Claims 7-25, 27, 28 and 30-32 comprehend inventions relating to four uses, namely, (1) an aggregate or accumulation of calcium phosphate beads, (2) a biomedical injector or filler, (3) a carrier for cell or tissue culture and (4) a carrier for pharmaceutical ingredients with respect to the calcium phosphate beads recited in claims 1-5.

However, as taught by the following references, the calcium phosphate beads having through-holes as recited in claims 1-5 were publicly known at the time of filing of this application. Further, the above four inventions have not any other common technical feature. Thus, the four inventions are not a group of inventions that are so linked as to form a single general inventive concept. Therefore, there are four inventions in this international application.

References:

WO 97/07495 A1 (COORS BIOMEDICAL COMPANY) 1987.12.17
JP 04-047422 U (Asahi Optical Co., Ltd.) 1992.04.22
JP 08-336584 A (Director General of National Institute for Research in Inorganic Materials of Science and Technology Agency) 1996.12.24
US 4960426 A (Denatal Kagaku Kabushiki Kaisha) 1990.10.02
JP 03-294221 A (NGK Spark Plug Co., Ltd.) 1991.12.25

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl' A61L27/12, C01B25/32

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl' A61L27/12, C01B25/32

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1926-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2003年
日本国実用新案登録公報	1996-2003年
日本国登録実用新案公報	1994-2003年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
CA/MEDLINE/BIOSIS/EMBASE(STN),
WP1/L (QUESTEL), JICSTファイル (JOIS)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	WO 87/07495 A1 (COORS BIOMEDICAL COMPANY) 1987.12.17, 全文、特にClaims、第8頁第25行～第9頁第3行参照、 & AU 8775448 A & EP 310623 A & US 4839215 A & GB 2212488 A & DE 3790291 T & JP 01-502642 A & CA 1307742 C	1-25, 27, 28, 30-32
X Y	JP 04-047422 U (旭光学工業株式会社) 1992.04.22, 全文、特に請求項1, 2参照 (ファミリーなし)	1-9, 14 15-22

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日 12.05.03	国際調査報告の発送日 27.05.03
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目 4番 3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 岡崎 美穂 電話番号 03-3581-1101 内線 3452 4C 3039 

様式PCT/ISA/210 (第2ページ) (1998年7月)

C (続き) 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 08-336584 A (科学技術庁無機材質研究所長) 1996.12.24,	1-6
Y	請求項1参照 (ファミリーなし)	15-22
X	US 4960426 A (Denatal Kagaku Kabushiki Kaisha) 1990.10.02,	1-6
Y	Claim1参照, & DE 3814467 A & JP 01-056056 A & FR 2619720 A & GB 2209000 A & IT 1217575 B & CA 1300028 C	15-22
X	JP 03-294221 A (日本特殊陶業株式会社) 1991.12.25,	1-6, 27, 28
Y	請求項1参照 (ファミリーなし)	30-32

様式PCT/ISA/210 (第2ページの続き) (1998年7月)

第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT第17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. 請求の範囲 26, 29 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、

請求の範囲 26, 29 は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT 第17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。

2. 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、

3. 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であって PCT 規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

特別ページ参照

1. 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。

2. 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。

3. 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。

4. 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。

追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 の続き

請求の範囲 7-25, 27, 28, 30-32には、請求の範囲1-5に記載のリン酸カルシウムビーズに関し、(1)リン酸カルシウムビーズ集合体又は集積体、(2)生体用注入・充填剤、(3)細胞・組織培養用担体、(4)薬剤成分用担体、という4種の用途に関する発明が含まれている。

しかしながら、下記文献に示されるとおり、請求の範囲1-5に係るような、貫通孔を有するリン酸カルシウムビーズは本願出願時に公知のものであり、上記4つの発明は、その他に共通する技術的特徴を有していないことから、単一の一般的発明概念を形成するように連関している一群の発明には当たらない。よって、この国際出願には4つの発明が存在する。

文献：

WO 97/07495 A1 (COORS BIOMEDICAL COMPANY) 1987.12.17
JP 04-047422 U (旭光学工業株式会社) 1992.04.22
JP 08-336584 A (科学技術庁無機材質研究所長) 1996.12.24
US 4960426 A (Denatal Kagaku Kabushiki Kaisha) 1990.10.02
JP 03-294221 A (日本特殊陶業株式会社) 1991.12.25

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.